

Title	Deficiency of the Caenorhabditis Polymerase $\eta$ Homologue Increases Sensitivity to UV Radiation during Germ-line Development
Author(s)	大雲, 剛志
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46368">https://hdl.handle.net/11094/46368</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照</a> ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名 おお 大 雲 つよ 剛 し 志

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 20074 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 18 年 3 月 24 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科情報伝達医学専攻

学 位 論 文 名 Deficiency of the *Caenorhabditis elegans* DNA Polymerase  $\eta$   
Homologue Increases Sensitivity to UV Radiation during Germ-line  
Development  
(線虫の DNA ポリメラーゼ  $\eta$  遺伝子を機能阻害すると生殖細胞から初期  
胚発生の過程で紫外線感受性が促進される)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 花岡 文雄

(副査)

教 授 杉野 明雄 教 授 田中亀代次

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

DNA ポリメラーゼ  $\eta$  (Pol  $\eta$ ) は皮膚癌を多発するヒト劣性遺伝病である色素性乾皮症 V 群 (XP-V) の原因遺伝子産物であり、紫外線による主な DNA 損傷である cyclobutane pyrimidine dimer (CPD) に対して、正しい塩基を重合して複製することができる。しかし、Pol  $\eta$  の生体内での働きに関しては不明な点が多い。そこで、本研究では動物個体での Pol  $\eta$  の役割をさらに詳しく理解するために、線虫 (*Caenorhabditis elegans* : Ce) を用いて、RNA interference (RNAi) 法による *Ce-pol $\eta$*  遺伝子発現抑制個体における表現型の解析を行った。

### 【方法ならびに成績】

cDNA ライブラリーから PCR で増幅して得られた *Ce-pol $\eta$*  は 584 個のアミノ酸からなり、ヒト *pol $\eta$*  と 30%、ショウジョウバエ *pol $\eta$*  と 26% の相同性を有した。*Ce-pol $\eta$*  の全長を含む領域の dsRNA を発現するベクターを有する大腸菌を餌として食べさせた線虫から total RNA を採取し、RT-PCR にて転写産物の量を調べたところ、コントロールとして空ベクターを有する大腸菌を食べさせた場合と比べて、*Ce-pol $\eta$*  遺伝子の転写産物の量が著しく減少していることが確認できた。野生型と比べて *Ce-pol $\eta$*  遺伝子の発現抑制を行った線虫の形態、行動、胚の孵化率に異常は観察されなかった。しかし、DNA 複製において主要な働きを担う DNA ポリメラーゼ  $\delta$  (Pol  $\delta$ ) を発現抑制した胚は全く孵化しなくなった。このことから、Pol  $\delta$  は線虫の胚発生に重要であるが、Pol  $\eta$  は線虫個体の発生そのものや生存自体には必須ではないことが示された。次に、卵形成から受精・発生の各ステージでの紫外線感受性を胚の孵化率により検討した。主に形態形成が行われる後期胚発生のステージの胚に紫外線を照射すると、*Ce-pol $\eta$*  遺伝子の発現抑制を行った胚はコントロールと比べて、わずかな孵化率の低下がみられた。これに対して、受精・卵割が行われる初期胚発生のステージの胚では、孵化率の著しい低下がみられた。すなわち、頻繁に、DNA 複製と細胞分裂が行われている時期では、Pol  $\eta$  はおそらく損傷乗り越え複製を介して、紫外線損傷による障害を最小限に抑えていると考えられた。さらに、初期胚発生のステージほどではないが、減数分裂過程で染色体間の相同 DNA 組換えが起こる

pachytene 期の胚でも孵化率の低下がみられたことから、Pol  $\eta$  は減数分裂時における DNA 障害の回避機構にも関与していると考えられた。

#### 【総括】

本研究では、*Ce-pol $\eta$*  の発現を著しく減少させても、線虫個体の発生や生存には影響しないこと、また、発生の時期によって紫外線感受性の異なることを観察するに至った。そして胚の紫外線耐性における Pol  $\eta$  の機能は、とりわけ発生初期において重要であることが明らかとなった。すなわち、頻繁に DNA 複製が起こる状況ほど、複製の進行阻害を速やかに解除できる損傷乗り越え複製機構の重要性が高いことが考えられる。近年、Pol  $\eta$  は損傷を乗り越えて複製すること以外に、ヒトやマウスで抗体産生細胞の体細胞突然変異に関与すること、HeLa 細胞やニワトリの DT40 細胞で相同組換えに関与することが報告されている。本研究により、Pol  $\eta$  は減数分裂時における相同組換え機構にも関与している可能性があり、今後、さらなる解析が進むことで、Pol  $\eta$  の生理機能の解明へとつながると考えられる。本論文の成果は、胚の発生や生殖細胞形成の時期における Pol  $\eta$  の機能を理解する上で重要な意義を持つものと思われる。しかし、*Ce-pol $\eta$*  遺伝子の発現の抑制に関わらず、線虫では発がんを誘発できないことから、発がん機構を理解する上で、Pol  $\eta$  欠損マウスの作出・解析も進めている。

#### 論文審査の結果の要旨

色素性乾皮症 V 群 (XP-V) の責任遺伝子産物である DNA ポリメラーゼ  $\eta$  (Pol  $\eta$ ) は紫外線による主な DNA 損傷である cyclobutane pyrimidine dimer (CPD) 対して、正しい塩基を重合して複製することがわかっている。一方、Pol  $\eta$  の生体内での働きに関しては不明な点が多い。本論文では、RNAi の手法を用いて *pol $\eta$*  の発現を著しく減少させても、線虫個体の発生や生存には影響しないことを示した。また、発生の時期によって紫外線感受性の異なることを観察し、とりわけ発生初期において重要であると結論した。すなわち、頻繁に DNA 複製が起こる状況ほど、複製の進行阻害を速やかに回避できる損傷乗り越え複製機構の重要性が高いことが考えられる。

本研究は、胚の発生や生殖細胞形成の時期における Pol  $\eta$  の機能を理解する上で重要な意義を持つものと思われるため、学位の授与に値すると考えられる。